

Relatório Final de Estágio
Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

**PLANO DE CONTROLO DA DIARREIA VIRAL BOVINA DA REGIÃO
AUTÓNOMA DOS AÇORES**

Mariana Azevedo Pessoa de Amorim

Orientador

Prof. Doutor Paulo Pegado Cortez

Co-orientadores

Dr. Mário Jorge Fontes da Silveira

Dr. Paulo Alexandre Alves Capêlo

Dr. John Borzillo

Relatório Final de Estágio
Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

**PLANO DE CONTROLO DA DIARREIA VIRAL BOVINA DA REGIÃO
AUTÓNOMA DOS AÇORES**

Mariana Azevedo Pessoa de Amorim

Orientador

Prof. Doutor Paulo Pegado Cortez

Co-orientadores

Dr. Mário Jorge Fontes da Silveira

Dr. Paulo Alexandre Alves Capêlo

Dr. John Borzillo

Agradecimentos

Ao longo destes anos de curso foram bastantes as pessoas que de alguma forma contribuíram e me ajudaram para que a conclusão deste fosse possível.

A todo o corpo docente e não docente do ICBAS, pela disponibilidade, apoio e todo o conhecimento que me transmitiram.

Ao Prof. Doutor Paulo Cortez, por me ter aceite como sua orientanda, por me ter aconselhado da melhor maneira quanto aos locais de estágio e pelo apoio ao longo destes anos.

Ao co-orientador, Dr. Mário Silveira por me ter recebido na Terceira e na UNICOL[®], pela partilha de conhecimentos, pela sua contribuição para que este tema fosse possível e pela sua amizade. A toda a equipa da UNICOL[®], e em especial ao Dr. João Fagundes, pela maneira como me integraram e pelos momentos tanto de ensino como de convívio que me proporcionaram.

À Dra. Paula Vieira e à Direcção de Serviços de Veterinária da Direcção Regional da Agricultura, por me terem facultado informação para que esta tese fosse possível.

Ao co-orientador Dr. Paulo Capêlo, por me ter aceite como sua estagiária e, em especial, ao Dr. André Martins, por fazer com que a minha passagem por Barcelos tenha sido tão proveitosa.

Ao co-orientador Dr. John Borzillo, por ter feito o meu estágio no CWAS um dos mais frutíferos e por se ter tornado um amigo incondicional. À sua família um especial obrigado por me terem recebido de braços abertos em sua casa e me terem aceite como membro temporário do clã.

A todos os trabalhadores da Heller Farm, por depositarem confiança em mim e me deixarem participar nas actividades diárias de uma vacaria.

À Dra. Andreia Santos, por me ter mostrado o lado feminino da profissão e pela sua amizade.

À equipa da Diessen[®], por me transmitirem o seu vasto conhecimento na área.

Aos meus eternos companheiros, colegas e amigos, Ana Morais, Marco Oliveira, Tiago Ribeiro, Beatriz Pessoa, Leonor Lemos, Tiago Pinto e Beatriz Cardoso.

Ao Diogo, pelo incondicional apoio e carinho.

E, por último, à minha família e, com especial destaque, à minha mãe e ao meu pai. Todo o carinho, força, luz e amor que me transmitiram tornaram este e muitos outros momentos possíveis na minha vida.

Resumo

O meu estágio curricular decorreu inicialmente em Portugal em dois locais distintos: na UNICOL[®], ilha Terceira e de seguida no concelho de Barcelos com o Dr. Paulo Capêlo. A terceira parte do meu estágio decorreu no Central Wisconsin Ag Services no Wisconsin, EUA.

Aquando da primeira parte do meu estágio, nos Açores, tive a oportunidade de verificar que o Programa de Controlo da Diarreia Viral Bovina tinha sido recentemente implementado e este ano, 2019, era um ano-chave pois tinham sido traçados metas a cumprir. Apercebi-me, num primeiro instante, que alguns dos objectivos ainda não tinham sido atingidos e de que o conhecimento sobre esta doença por parte dos produtores estava um pouco aquém do esperado, podendo comprometer os esforços de controlo desta doença. Sendo assim, decidi fazer um inquérito ao produtor para poder quantificar, de alguma forma, o conhecimento destes e assim concluir o porquê do não cumprimento por parte da entidade reguladora dos objectivos inicialmente propostos.

Após uma breve introdução à doença e aos seus aspectos clínicos, foco-me na evolução dos programas de controlo e erradicação existentes na Europa e no trajeto percorrido por estes países até ao sucesso. Por fim, e com base no inquérito realizado, é feita uma apreciação do conhecimento geral dos produtores da ilha Terceira relativamente ao actual programa de controlo a decorrer na Região Autónoma dos Açores.

Será conveniente referir que a vacinação era uma das medidas deste Plano mas que ainda estava a decorrer aquando da conclusão do meu estágio. O Médico Veterinário e as palestras que decorriam nas associações de produtores existentes na ilha eram de elevada importância como fontes difusoras de informação acerca do plano de controlo mas, mesmo assim, a percepção que os produtores detinham dos efeitos da Diarreia Viral Bovina nos seus animais era ainda diminuta.

Índice

Casuística	1
Introdução.....	4
Diarreia Viral Bovina.....	4
O vírus	5
Epidemiologia	6
Patogénese	6
Infecção aguda	6
Infecção intra-uterina.....	7
Infecção intra-uterina até aos 30-45 dias de gestação	7
Infecções dos 30 a 125 dias de gestação.....	7
Infecções dos 125 aos 175 dias de gestação	8
Infecções dos 175 dias ao termo da gestação.....	8
Um possível caso durante o estágio	8
Animais PI	9
Doença das Mucosas	9
Supressão de Imunidade	10
Transmissão.....	10
Diagnóstico	11
Isolamento Viral.....	11
Detecção de Antígeno	11
Reverse Transcription-Polimerase Chain Reaction (RT-PCR).....	12
Serologia.....	12
Vacinação	12
Vacinas inactivadas	13
Vacinas vivas modificadas	13
Impacto Económico.....	13
Programas de Controlo e de Erradicação	14
O modelo Escandinavo.....	14
O modelo Suíço.....	15
O Programa de Controlo da Diarreia Viral Bovina na Região Autónoma dos Açores	16
Estudo	19
Materiais e Métodos	19
Resultados	19
Caracterização da amostra	19

Informações relativas ao efectivo.....	20
Informações relativas ao produtor.....	21
Informações relativas ao Plano de Controlo da BVD na RAA.....	21
Discussão.....	23
Conclusão.....	25
Bibliografia.....	27

Índice de Abreviaturas

%	Porcentagem
\$	Dólares Americanos
BVD	Diarreia Viral Bovina
BVDV	Vírus da Diarreia Viral Bovina
CP	Citopatogénico
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
EUA	Estados Unidos da América
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
NCP	Não-Citopatogénico
PI	Persistentemente Infectado
RAA	Região Autónoma dos Açores
RNA	Ácido Ribonucleico
RT-PCR	Reverse Transcription-Polimerase Chain Reaction
TI	Transitoriamente Infectado

Índice de Figuras

Figura 1a e 1b - Vitelo com 1 dia de idade em que é possível observar hidrocefalia, depressão e cataratas.....	8
Figura 2 - Esquema diagnóstico nas explorações leiteiras do Programa de Controlo da BVD na RAA.	17
Figura 3 - Mapa da distribuição da localização das explorações inquiridas assinaladas com estrela preta.....	20

Índice de Tabelas

Tabela 1 - Casuística na Ilha Terceira.....	1
Tabela 2 - Casuística em Barcelos.	2
Tabela 3 - Casuística no Wisconsin.	3

Índice de Gráficos

Gráfico 1 - Casuística de reprodução, clínica e cirurgia desenvolvida na UNICOL®.	1
Gráfico 2 - Casuística de reprodução, clínica e cirurgia desenvolvida com o Dr. Paulo Capêlo...2	
Gráfico 3 - Casuística de reprodução, clínica e cirurgia desenvolvida na CWAS®.	3
Gráfico 4 - Comparação de produtores que adquirem animais noutras explorações e destes quantos têm em conta o histórico de doenças.	21
Gráfico 5 - Comparação de produtores que conhecem o Plano de Controlo de BVD na RAA e dos que conhecem qual a fonte que os informou.....	21
Gráfico 6 - Datas em que os produtores referem terem tido casos positivos a BVD	22
Gráfico 7 - Data de implementação do Programa de Controlo da BVD nas explorações.	22

Casuística

O meu estágio curricular iniciou-se no dia 7 de Janeiro de 2019 na ilha Terceira, Açores, com a equipa da Unicol, tendo tido a duração de 9 semanas. A Unicol é uma união de cooperativas de lacticínios presente na ilha Terceira e na ilha Graciosa, sendo composta por diversos sectores ligados à indústria do leite e da carne, incluindo a prestação de serviços veterinários às explorações associadas à cooperativa. Aqui tive oportunidade de conhecer e trabalhar com uma equipa de 5 veterinários no seu dia-a-dia pelas explorações de toda a ilha Terceira, acompanhando controlos reprodutivos com recurso à palpação transrectal, cirurgias e clínica, além da oportunidade de participar em várias palestras e num congresso que decorreram na altura em que estive presente. Foi nesta fase que surgiu a oportunidade de desenvolver o tema da presente tese.

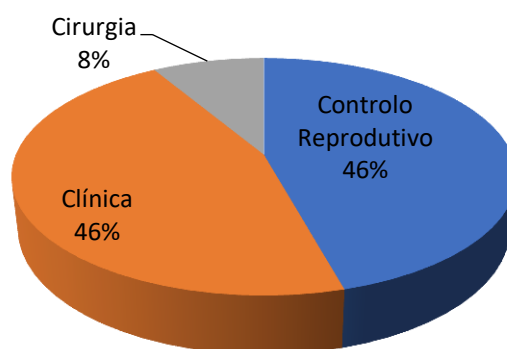


Gráfico 1 - Casuística de reprodução, clínica e cirurgia desenvolvida na UNICOL®.

Tabela 1 - Casuística na Ilha Terceira.

Procedimento	Número de animais
Controlo Reprodutivo	80
Parto Distócico	8
Prolapso Uterino	3
Hipocalcémia	15
Correção de Deslocamento de abomaso à esquerda com piloropexia	10
Correção de Deslocamento de abomaso à direita com torção com piloropexia	2
Recolha de Tronco Encefálico	7
Pneumonia	10
Metrite	15

Toxémia de gestação em cabras	3
Diarreia Neonatal	10
Cesariana	2
Cetose Nervosa	2

Na segunda parte do meu estágio, estive em Barcelos durante 3 semanas a partir do dia 11 de Março de 2019. Aqui acompanhei o Dr. André Martins e o Dr. Paulo Capêlo na prática de clínica ambulatoria baseando-se os serviços em medicina, cirurgia e fertilidade nas explorações leiteiras e de carne no concelho de Barcelos. A maior parte do trabalho foi realizada em clínica de vacas leiteiras mas, em casos pontuais, também em explorações de caprinos.

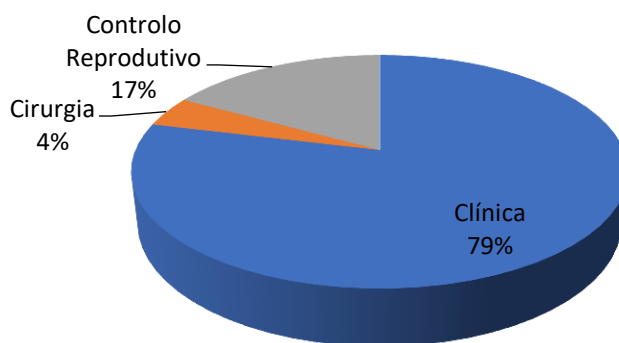


Gráfico 2 - Casuística entre reprodução, clínica e cirurgia desenvolvida com o Dr. Paulo Capêlo.

Tabela 2 - Casuística em Barcelos.

Procedimento	Número de Animais
Controlo Reprodutivo	20
Pneumonia	5
Vacinação para IBR/BVD	80
Parto distócico	3
Correção de Deslocamento de abomaso à esquerda com piloropexia	5
Metrite	2
Diarreia Neonatal	3

Por último, estive no Central Winsconsin Ag Services, com sede em Alma Center, Winsconsin, durante 4 semanas a partir do dia 1 de Abril de 2019. Esta empresa era composta por 3 veterinários, um nutricionista, um agrónomo e uma equipa que fazia a correcção de cascos. Aí, acompanhei a equipa de veterinários em controlos reprodutivos com recurso a ecógrafo, medicina, cirurgia e gestão de vacarias. A maioria do trabalho foi realizada no âmbito de fertilidade pois as vacarias tinham protocolos fornecidos pela equipa relativos a terapias necessárias, consistindo as chamadas de urgência em casos de partos distócicos ou intervenções cirúrgicas. Tive também a oportunidade de participar num ciclo de palestras leccionados durante 2 dias para os veterinários do estado do Winsconsin e também nas actividades do quotidiano de uma vacaria de leite, a Heller Farm, com cerca de 1200 vacas em lactação.

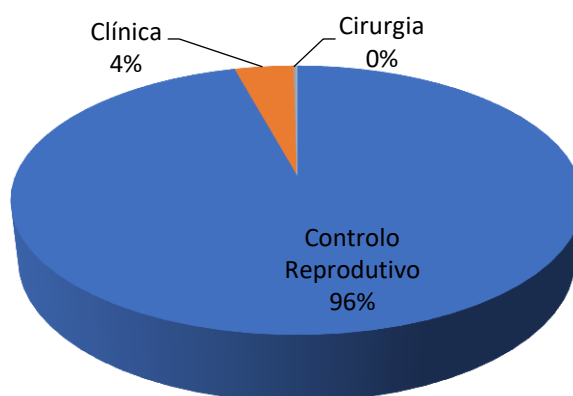


Gráfico 3 - Casuística entre reprodução, clínica e cirurgia desenvolvida na CWAS®.

Tabela 3 - Casuística no Wisconsin.

Procedimento	Número de animais
Controlo Reprodutivo	3200
Correcção de deslocamento de abomaso à esquerda com piloropexia	3
Correcção de deslocamento de abomaso à esquerda com toggle pin	5
Descorna	20
Inseminação Artificial	10
Prolapso Uterino	1
Parto distócico	3
Vacinação para mamite coliforme	100

Introdução

Diarreia Viral Bovina

A Diarreia Viral Bovina (BVD) é uma doença infecto-contagiosa de distribuição mundial e é causadora de grandes perdas económicas (Brownlie 1990). Esta doença é causada por um vírus que provoca uma doença multifacetada e é um dos mais complicados no universo bovino devido à sua patogénese (Smith, Bradford 2014).

Os primeiros relatos desta doença foram feitos por Olafson, MacCallum e Fox e surgiram na década de 40 nos Estados Unidos da América, relatando casos de diarreia severa, anorexia, salivação e erosão gastrointestinal. No mesmo ano, surgiram relatos no Canadá que foram mais tarde considerados como os primeiros casos de Doença das Mucosas (DM). Em 1953, Ramsey e Chivers descreveram a DM e conseguiram perceber que não era transmissível experimentalmente, sendo apenas observada febre nos animais inoculados. Esta característica, as diferenças nas lesões gastrointestinais, a baixa morbilidade e a alta mortalidade levaram a crer que era uma doença distinta da BVD (Goyal & Ridpath 2008).

Nos finais da década de sessenta, já existia consenso na comunidade científica sobre o então "*Bovine viral diarrhea-mucosal disease complex*": existiam duas formas da doença (Goyal & Ridpath 2008).

Paralelamente, em 1961, a estirpe citopatogénica do Virus da Diarreia foi cultivada em cultura celular até ser possível observar seroconversão sem sinais clínicos. Então, o vírus atenuado Oregon, tornou-se a primeira vacina comercializada mas esteve associada a inúmeras complicações como infertilidade, defeitos congénitos e doença das mucosas induzidas pela vacina (Smith, Bradford 2014).

De seguida, as atenções focaram-se em infetar experimentalmente animais gestantes e recém-nascidos. Assim, começou-se a entender o conceito de animais persistentemente infetados (PI).

Então, nos finais da década de 60 tinha-se tornado evidente que animais com DM tinham virémia persistente e eram muitas vezes incapazes de produzir anticorpos (AC) neutralizantes. Por conseguinte, esta e outras características levaram a crer que ocorria infecção intra-uterina antes do feto ser imunocompetente (Goyal & Ridpath 2008).

Apenas em 1984 foi possível reproduzir a DM num animal PI pelo que foi concluído que esta apenas ocorre em animais infetados com uma estirpe CP BVDV. Ocorreu então no fim desta década uma revisão sobre a BVD que foi reclassificada como um pestivirus, tal como o vírus da *Border disease* e da Peste Suína Clássica.

Assim, 2 elementos para o controlo da doença foram considerados essenciais: a detecção e eliminação dos PI e a imunização de animais reprodutores antes da sua primeira concepção. No entanto, a eliminação de animais PI era considerada cara por causa dos testes envolvidos (Goyal & Ridpath 2008).

Então, Baker em 1987, notou que ao testar uma exploração os animais PI podem ser seropositivos devido aos anticorpos maternos e que todos os animais nascidos nos 9 meses seguintes ao teste diagnóstico podem estar potencialmente PI. Depois de uma exploração estar livre de animais PI, recomendou que todos os animais que entrassem na exploração e a descendência de fêmeas prenhas deveriam ser testada para vírus (Baker 1987).

Em 1993, ocorreu em Inglaterra e no Canadá um surto com sinais clínicos semelhantes à DM e a síndrome hemorrágica e o que agora é conhecido como BVD aguda sendo devido ao NCP BVDV em vez do esperado CP causador de DM. Assim, em 1994 chegaram à conclusão que os isolados de BVDV que causam a síndrome hemorrágica e BVDV agudo eram diferentes dos então conhecidos (Peek & Divers 2018). Um novo genótipo foi então classificado como BVDV tipo 2 (Goyal & Ridpath 2008).

O vírus

A BVDV, um pestivirus da família Flaviridae, é uma das quatro espécies pertencente a este género: BVDV-1, BVDV-2, o vírus da *Border Disease* (BDV) e o da Febre Suína Clássica (CSFV) (Goyal & Ridpath 2008) e baseia o seu sucesso em duas estratégias: causa uma infecção transitória em que os sinais clínicos são, na sua grande maioria, benignos. Daqui resulta uma imunidade que dura a vida do animal. Já a segunda, tem uma característica única dentro dos vírus que são capazes de causar uma infecção persistente: infecta o feto, e dependendo da sua fase de desenvolvimento, consegue, assim, estabelecer uma infecção caracterizada pela imunotolerância em que o animal se torna persistentemente infectado (Peterhans *et al.* 2003).

Assim, a BVDV divide-se em dois genótipos, de acordo com as diferenças encontradas nas sequências genéticas e também antigénicas, a BVDV-1 e a BVDV-2 (Goyal & Ridpath 2008).

Deste modo, o genótipo 1 foi dividido nos subtipos 1a e 1b na América do Norte e em 11 na Europa. Em Portugal, o subtipo mais presente é o 1b apesar de também estar presente o 1a, 1d e 1e (Barros *et al.* 2006, Benevides *et al.* 2015). Na ilha Terceira, o subtipo presente é o 1a (Benevides *et al.* 2015). Quanto ao BVDV-2, foram descritos 2 subtipos: 2a e 2b. Em 2006, foi detetado o genótipo BVDV-2 em Portugal (Barros *et al.* 2006).

Mas, para além desta divisão, também existem 2 biótipos: Citopatogénico (CP) e o Não-citopatogénico (NCP) dependendo do efeito em culturas celulares. O CP induz apoptose nas culturas enquanto o NCP não induz. A fonte mais importante de NCP são os animais PI. Infecções agudas em fêmeas não gestantes e sem imunidade resultam em virémia transitória (Iotti *et al.* 2019).

O biótipo CP é responsável pela Doença das Mucosas e esta acontece quando um animal infetado com um biótipo NCP é infetado com um CP homólogo ao anterior (Peek & Divers 2018). A DM é uma forma relativamente rara de BVDV, como tal, não representa uma grande perda económica para o produtor. Assim, as perdas económicas são mais significativas se forem associadas a infecções agudas com CP BVDV (Houe 1999).

Epidemiologia

O vírus da BVD tem distribuição mundial e na Europa é considerado erradicado nos países escandinavos. O número de animais PI varia entre 0,5% e 2,0% e o número de animais seropositivos é bastante variável, rondando entre os 13% e os 90% (Houe 1999, Smith, Bradford 2014). Em 2005, na região de Entre Douro e Minho a seroprevalência individual era de 27% (Niza-Ribeiro *et al.* 2005).

Patogénese

A patogénese é o desenvolvimento de doença, baseando-se numa complexa interação entre o agente e o hospedeiro. No entanto, neste caso o genótipo, o biótipo, a virulência da estirpe e sistema imune do hospedeiro são factores que fazem com que os sinais clínicos sejam altamente variáveis. Como tal, podemos dividir em: infecção aguda, infecção intra-uterina, infecção persistente e DM (Goyal & Ridpath 2008).

Como hospedeiros do vírus, para além dos bovinos, animais como o búfalo africano e indiano, iaque, algumas espécies de antílope africano, alpacas, lamas, suínos, ovelhas e cabras também podem ser potenciais hospedeiros (Maclachlan & Dubovi 2016).

Infecção aguda

A infecção aguda ocorre quando um animal susceptível, ou seja, seronegativo e imunocompetente, fica infectado com BVDV. Normalmente, a fonte de infecção são os animais PI, visto que a transmissão horizontal por outros animais com infecção aguda é menos frequente, sendo a via oronasal a mais comum (Goyal & Ridpath 2008).

Pode ser provocada por estirpes de baixa virulência ou de alta virulência. O genótipo BVDV-2 parece estar associado a estirpes de maior virulência (Peek & Divers 2018).

Os sinais clínicos começam com febre bifásica (entre os 40,6° a 42,2°C) e depressão e 2 a 7 dias mais tarde ocorre diarreia. Normalmente a febre começa alta e diminui ao fim de alguns dias, podendo existir outro pico alguns dias mais tarde. A diarreia e as erosões do trato gastrointestinal acontecem durante o segundo pico. As lesões orais estão presentes em cerca de 30% a 50% dos animais infectados. Os animais mais afectados são por norma novilhas de 6 a 10 meses, mas, pode ocorrer em todos os animais que são susceptíveis (Peek & Divers 2018).

Também está descrito uma síndrome hemorrágica em que os sinais clínicos estão associados a trombocitopenia como: diarreia sanguinolenta, hifema, epistaxis e equimoses. É causado pela estirpe BVDV-2 embora já tenha sido reproduzido experimentalmente em vitelos que não receberam colostro pela BVDV-1b (Smith, Bradford 2014).

Infecção intra-uterina

O aborto é uma possibilidade sempre presente quando ocorre infecção com BVDV. Com a estirpe CP é passível de acontecer na maior parte dos estadios da gestação. Já com a estirpe NCP ocorre a partir do segundo trimestre (Peek & Divers 2018).

Infecção intra-uterina até aos 30-45 dias de gestação

A consequência mais comum da exposição ao BVDV durante os estadios iniciais da gestação é a infertilidade. Durante os primeiros 18 dias de prenhez o embrião ainda não está implantado e se a fêmea desenvolver uma virémia por BVDV, a zona pelúcida é responsável pela protecção do embrião (Peek & Divers 2018).

Após o desenvolvimento dos cotilédones, a virémia da fêmea prenha dos dias 29 ao 41 após a concepção pode resultar em perdas embrionárias e taxas de prenhez reduzidas (Lanyon *et al.* 2014).

Infecções dos 30 a 125 dias de gestação

A janela de oportunidade para a ocorrência de imunotolerância no feto após uma infecção é aproximadamente 100 dias (Goyal & Ridpath 2008). No entanto, estes dias podem variar de feto para feto indo dos 18 aos 125 dias. Houve, em 2004, um caso reportado de um animal PI com um gêmeo seropositivo (Lanyon *et al.* 2014). Assim, um pré-requisito para o desenvolvimento

de animais PI é a infecção materna aquando do desenvolvimento da imunocompetência do feto (Goyal & Ridpath 2008).

Infecções dos 125 aos 175 dias de gestação

Se as infecções ocorrerem durante o desenvolvimento fetal e a organogénese, podem ocorrer variadas anomalias congénitas. As mais comuns são anomalias do SNC e podem incluir hipoplasia cerebelar, microcefalia e hidrocefalia, sendo a primeira a mais comum (Goyal & Ridpath 2008). Assim, os vitelos apresentam ataxia, tremores, cataratas, microftalmia e têm crescimento mais lento, o que acaba por ditar a eutanásia dos mesmos (Smith, Bradford 2014).

Infecções dos 175 dias ao termo da gestação

Como nos últimos estadios de gestação, a imunocompetência é completa, os fetos são normalmente capazes de desenvolver uma resposta imune contra o vírus (Boersema *et al.* 2013). Os vitelos resultantes deste evento nascem com anticorpos neutralizantes para a BVDV e durante os primeiros 10 meses são duas vezes mais susceptíveis a outras doenças do que os que não possuem anticorpos para a BVDV (Smith, Bradford 2014).

A maior parte das infecções congénitas, como mencionado anteriormente, ocorre quando há infecção entre os dias 80 e 150 de gestação. Ou seja, há uma sobreposição dos dias em que é possível a formação de uma cria PI (Peek & Divers 2018).

Um possível caso durante o estágio

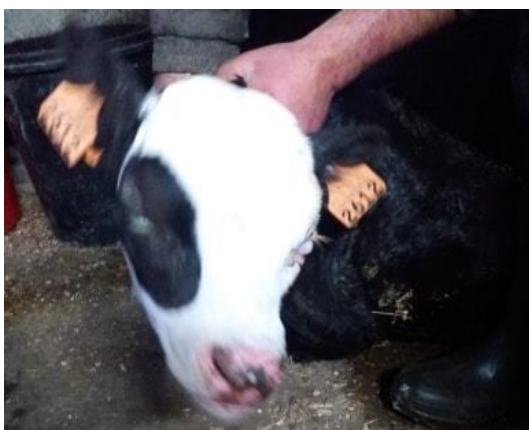


Figura 1a e 1b - Vitelo com 1 dia de idade em que é possível observar hidrocefalia, depressão e cataratas.

Aquando duma visita a uma exploração, observamos um vitelo com cerca de 2 dias (Figuras 1.a e 1.b). O exame físico foi realizado e os sinais clínicos consistiam em depressão, hidrocefalia e cataratas em ambos os olhos. Não foi realizado um exame físico mais detalhado pois o dono da

exploração queria que fosse feita eutanásia do animal. Apesar disso, este mencionou que já tinha brincado o animal (*ear notch sample*) e entregue a amostra nos Serviços de Desenvolvimento Agrário. Mais tarde, quando procurei saber o resultado do teste diagnóstico junto ao laboratório, fui informada que como o dono do animal tinha participado o nascimento, a morte e tinha entregue a amostra no mesmo dia, esta não foi realizada.

Animais PI

Durante o desenvolvimento fetal, se houver uma infecção da fêmea gestante com uma estirpe NCP da BVDV, podem nascer animais PI. Se a infecção ocorrer entre os 30 e os 90 dias, a probabilidade formação de PI é maior, diminuindo à medida que o feto se aproxima dos 125 de gestação. Como o feto ainda não é imunocompetente nesta fase não ocorre reacção à BVDV. Assim, nascem animais aparentemente normais que podem morrer durante as primeiras horas de vida ou sobreviver. Os animais que sobrevivem têm cerca de 50% de taxa de mortalidade no primeiro ano de vida quando comparados com animais não-infectados (Smith, Bradford 2014). Os animais PI têm imunotolerância apenas à estirpe de BVDV que causou a infecção uterina (Goyal & Ridpath 2008).

A introdução de um animal adulto PI tem consequências diferentes quando comparado ao nascimento de um animal PI numa exploração. Como um animal recém-nascido PI tem uma taxa de mortalidade elevada, apenas um quarto das fêmeas PI nascidas numa exploração sobrevivem até atingir a puberdade, e assim, apenas esta percentagem pode gerar fetos PI. Por norma, uma vacaria encontra-se dividida por grupos, então, enquanto um recém-nascido PI infeta directamente outros vitelos e indirectamente adultos, uma novilha PI infeta outras novilhas que ainda não pariram e vacas adultas após parirem. Assim, a introdução de uma novilha PI é um maior risco para a reintrodução do vírus numa exploração (Ezanno *et al.* 2008).

Assim, uma mãe PI produz sempre um filho PI. Um recém-nascido PI pode ter nascido de uma vaca não PI, tendo de ocorrer uma infecção com uma estirpe NCP da BVD numa janela temporal da gestação oportuna como mencionado anteriormente (Peek & Divers 2018). Os animais são capazes de infetar outros animais através do sangue, urina, aerossóis, saliva, sémen e leite (Flaherty & Doherty 2011).

Doença das Mucosas

A DM é a manifestação clínica mais dramática de BVDV e é causadora de lesões bastante características. Foi descrita inicialmente em 1953 por Ramsey e Chivers e os sinais mais comuns

observados foram ulcerações e hemorragias na cavidade oral, esófago, abomaso e nos intestinos delgado e grosso. Após vários anos de investigação, Coria e McClurkin chegaram á conclusão que um animal com DM tem de primeiro ser infectado no útero com uma estirpe NCP de BVDV, ou seja, tem de ser um PI (Goyal & Ridpath 2008). Então, existem duas maneiras de a DM ocorrer: o biótipo NCP que está a infetar o animal PI sofre mutação e assim o novo CP infeta o animal ou este é exposto a uma estirpe CP hómologa à estirpe NCP que o está a infetar (Wernike *et al.* 2017b).

Existe a DM de início rápido, com os animais a apresentarem normalmente os sinais clínicos de DM 2 a 3 semanas após infecção com BVDV CP. Por outro lado, existe a DM de início tardio, em que os sinais clínicos surgem meses após contacto com o vírus (Goyal & Ridpath 2008).

Supressão de Imunidade

Os efeitos imunossupressores da BVD contribuem para o impacto clínico de uma infecção primária por BVDV mas também para a infecções por outros agentes, como por exemplo, do tracto gastrointestinal e do sistema respiratório.

Assim, a susceptibilidade a infecções secundárias é maior pois os animais infectados com esta doença têm a resposta imune inata e adquirida prejudicada e uma depleção linfocitária (Peek & Divers 2018). Apesar do BVDV ser frequentemente isolado em animais com pneumonia, não é o único agente presente, podendo ser isolados também o Vírus da Paraínfluenza (PIV-3), Herpesvirus bovino (BHV), Corona Vírus bovino (BVC), Vírus Respiratório Sincicial Bovino (BRSV), *Manheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida*, *Mycoplasma Bovis* e *Histophilus Somni* (Goyal & Ridpath 2008). A imunossupressão pode também explicar o porquê de os animais PI desenvolverem pneumonia quando outros animais em contacto não desenvolvem (Peek & Divers 2018).

Transmissão

Existem dois modos de classificar a transmissão deste vírus: horizontal e vertical.

Estas duas formas de transmissão estão bastante relacionadas pois a transmissão horizontal a uma fêmea prenha pode resultar em transmissão vertical ao feto que se está a desenvolver.

A transmissão horizontal resulta dum PI, que excreta continuamente o vírus. O animal PI consegue excretar o vírus através de secreções nasais, urina, fezes, leite e colostro, saliva, sémen e fluidos uterinos, como mencionado anteriormente. Este é o método mais eficaz de transmissão horizontal, com a inalação e a ingestão sendo as fontes mais importantes (Peek & Divers 2018).

Assim, também pode ser transmitido através de fómites. A reutilização de agulhas hipodérmicas e a palpação transrectal utilizando a mesma luva são possíveis fontes de transmissão (Peek & Divers 2018).

Touros transitoriamente infetados (TI) e PI podem transmitir BVDV tanto horizontal como verticalmente, apesar de os primeiros transmitirem a uma escala menor (Smith, Bradford 2014).

A transmissão entre vacarias (*herd-to-herd*) normalmente ocorre por aquisição de um PI ou de fêmeas prenhas com um PI. No entanto, também a compra de animais com infecção aguda, contacto no pasto e em feiras de animais também são fontes de transmissão descrita entre o gado (Smith, Bradford 2014).

Em algumas circunstâncias, pode ocorrer a eliminação espontânea do vírus em explorações com BVDV. Esta eliminação é resultado da falta de animais susceptíveis à infecção combinada com a remoção de animais PI (Sandvik 2004).

Diagnóstico

Devido à grande variabilidade de sinais clínicos da infecção com BVDV, a única maneira de fazer um diagnóstico fiável é recorrendo a testes diagnósticos (Peek & Divers 2018).

Os testes diagnósticos podem dividir-se em directos ou indirectos. Os primeiros detetam a presença do vírus, o seu genoma ou proteínas e antígenos por ele produzidos e incluem RT-PCR, ELISA, imunofluorescência ou imunohistoquímica de tecidos frescos ou fixados e isolamento viral em culturas celulares. Os testes indirectos detetam anticorpos específicos da BVDV.

Isolamento Viral

O Isolamento Viral é um método fiável para o diagnóstico da BVDV, sendo presentemente considerado o “*gold standard*”. Este método consiste numa cultura a partir de sangue, plasma, sêmen, zaragatoas nasais e variados tipos de tecidos, sobretudo os tecidos associados ao sistema linfóide (Smith, Bradford 2014). No entanto, nos últimos anos o RT-PCR ganhou bastante popularidade pois é menos caro e não está restringido a laboratórios capacitados para a realização de culturas celulares (Peek & Divers 2018).

Deteção de Antígeno

Os métodos para detecção de antígeno incluem imunohistoquímica e ELISA com captura de antígeno e são utilizados tecidos frescos, fixados ou congelados e sangue. A técnica de imunohistoquímica demonstrou uma sensibilidade de 100% para detecção de animais PI quando

usado numa amostra de tecido da orelha (*ear notch*) (Lanyon *et al.* 2014). Estes testes são rápidos e não dispendiosos quando comparados ao Isolamento Viral e não amplificam antígeno, ou seja, são ideais para detetar animais com uma grande quantidade de antígeno como um PI. Assim, este método é o de eleição para a detecção de PI num efectivo através de tecido da orelha, pois é possível a sua realização em animais muito jovens, que por Isolamento viral e ELISA com captura de antígeno em amostras de sangue dariam um resultado negativo por interferência dos AC de origem materna (Smith, Bradford 2014).

Reverse Transcription-Polimerase Chain Reaction (RT-PCR)

Este método é utilizado como rotina desde que ficaram disponíveis comercialmente isolados de BVDV. Este método é utilizado para fazer os testes “*pool*”, contribuindo assim para a diminuição de custos associados à realização de testes à exploração inteira (Smith, Bradford 2014). Assim, são utilizados em amostras de tanque do leite, sangue, soro e tecidos. Um resultado positivo neste teste em amostras agrupadas tem, de seguida, de ser aplicado em grupos mais pequenos para assim identificar qual o animal infectado (Peek & Divers 2018).

Serologia

A detecção de anticorpos (AC) de BVDV pode ser algo complicada devido à distinção entre AC maternos e AC produzidos após infecção ou após vacinação.

Deste modo, é importante saber informações relativas ao efectivo como, por exemplo, o histórico de vacinação. A serologia pode ser usada para determinar a taxa de sucesso da vacinação, a conformidade do protocolo vacinal ou saber se o efectivo já esteve em contacto com a BVDV. O método ELISA e Neutralização Viral são os mais utilizados (Smith, Bradford 2014).

Vacinação

Um dos pilares de alguns dos atuais programas de controlo da BVD é a utilização de vacinas. É possível através destas reduzir e prevenir a forma aguda da doença, da infecção fetal e aumentar a imunidade colostrar oferecida aos recém-nascidos. No entanto, historicamente surgiram alguns problemas com a utilização destas. As vacinas vivas modificadas induziam doença clínica e a formação de PI. Existem também dois aspectos importantes a considerar relativamente à BVD: a grande diversidade antigénica faz com que seja difícil imunizar os animais contra todas as possíveis estirpes e a enorme carga viral que é excretada por um animal PI faz com que mesmo manadas imunizadas possam ser infetadas o que deita por terra todos os esforços feitas no sentido de eliminar os PI duma exploração (Peek & Divers 2018).

A vacinação tem sido uma das medidas práticas com mais importância contra a BVDV. No entanto, com o avançar do conhecimento epidemiológico relativo a esta doença, com especial foco nos PI e na infecção transplacentar, alvos mais específicos como a protecção fetal surgiram. Se não houver completa protecção fetal do animal vacinado (no caso das vacinas inactivadas) pode ocorrer transmissão da BVDV (Sandvik 2004).

Vacinas inactivadas

As vacinas inactivadas induzem uma resposta imunitária humoral, sendo seguras para administração em qualquer fase da gestação não causando imunossupressão. No entanto, a revacinação é maioritariamente necessária e a protecção fetal conferida é dúbia. A duração da imunidade é menor do que a das vacinas vivas modificadas (Moennig *et al.* 2005, Peek & Divers 2018).

Vacinas vivas modificadas

As vacinas vivas modificadas, à semelhança do vírus de campo, induzem uma imunidade duradoura baseada na imunidade induzida pelas células T e B e conferem melhor protecção fetal. No entanto, se forem aplicadas de modo impróprio, como por exemplo, numa gestação precoce, pode resultar em nascimento de animais PI ou quando administradas a animais PI estes podem desenvolver DM (Moennig *et al.* 2005). Além disso, podem também induzir uma imunossupressão temporária (Ridpath 2013).

Impacto Económico

A implementação de programas de controlo ou erradicação na Europa tem aumentado por causa do impacto económico das infecções causadas por BVDV (Greiser-Wilke *et al.* 2003).

A relação entre prevenção, vigilância, medidas de intervenção e perdas de produção devem ser todas consideradas de um ponto de vista económico. A prevenção compreende medidas de biossegurança, a vigilância deteta a presença ou demonstra a ausência de doença. As medidas de intervenção como controlo ou erradicação têm por objectivo a redução da prevalência da doença mas, no entanto, diferem no grau em que a doença é reduzida (Pinior *et al.* 2017). Actividades como a vigilância e a intervenção utilizam recursos e são parte de uma estratégia de mitigação para conter ou eliminar uma doença (Häsler *et al.* 2012)

Assim, o controlo da doença pretende fazer com que a prevalência seja reduzida a um nível relativamente baixo e a erradicação tem como objectivo a continuada ausência de doença (Pinior *et al.* 2017).

A avaliação do impacto económico da BVDV numa exploração depende de vários factores. Existem variadas manifestações clínicas que têm de ser consideradas como: infecção aguda em animais adultos, doenças reprodutivas como abortos e fêmeas repetidoras, mortalidade neonatal aumentada, doença respiratória, defeitos congénitos e crescimento tardio em animais novos.

Em 2003, as perdas monetárias associadas a BVD foram calculadas em 24-161\$ (dólares americanos) por vaca leiteira. No entanto, quando existem outras infecções concomitantes pode ir até aos 410\$ (Houe 2003).

Um dos problemas no cálculo das perdas económicas associadas aa BVD é a grande variação na literatura que é encontrada. Na maioria dos casos só as perdas directas são calculadas e não as perdas indirectas, como o risco do animal estar mais susceptível a outras doenças, bem-estar animal e o comércio de gado (Houe 2003). Este último representa umas das mais importantes formas de transmissão de doenças entre animais (Pinior *et al.* 2017). Assim, é necessário fazer um estudo nacional para englobar aspectos económicos quanto aos programas de controlo e erradicação. Existe grande variação na metodologia usada e, para além disso, os danos causados pela BVDV são diferentes de exploração para exploração (Houe 2003).

Então, a falta de estudos económicos precisos relativos à eficiência da prevenção e actividades de mitigação da BVDV a nível regional e nacional faz com que seja difícil a definição de recomendações gerais no que concerne o aspecto económico desta doença. A grande variabilidade de estudos estatísticos utilizados e os diferentes sistemas de produção são também factores que contribuem para esta dificuldade (Pinior *et al.* 2017).

Programas de Controlo e de Erradicação

Na Europa têm sido aplicados programas de controlo e erradicação desde os anos 90. Em ambos, o primeiro passo é a identificação e eliminação de animais PI, no entanto, a estratégia aplicada após este passo depende da seroprevalência, da densidade animal e da aplicação de vacinas. Os programas de erradicação são aplicados em regiões onde a vacinação não ocorre e a densidade animal é baixa (Greiser-Wilke *et al.* 2003).

O modelo Escandinavo

O primeiro país europeu a começar uma erradicação sistemática sem vacinação da BVD foi a Suécia em 1993 país que possui uma baixa densidade animal. Este programa começou com carácter voluntário e era baseado numa firme política de não vacinação em que a demonstração da ausência de AC era necessária para a certificação. Foi também implementado um protocolo sistemático de testagem e abate dos PI (Hult & Lindberg 2005). Os agricultores suportaram os

custos de amostragem e de realização dos testes embora tenham sido concedidas ajudas monetárias a zonas com elevada prevalência e densidade. Os testes, ELISA para detecção de AC, eram feitos utilizando leite do tanque ou sangue ou leite de um número pequeno de animais de uma certa idade (*pool*) (Presi & Heim 2010).

Deste modo, foi possível a detecção indirecta de infecções por BVDV e animais que sendo positivos aos AC são indicadores de infecção activa, ou seja, demonstram que existiam animais PI na exploração (Greiser-Wilke *et al.* 2003).

Para diminuir as potenciais fontes de reinfecção, em Junho de 2002 o programa passou a ser obrigatório (Sandvik 2004). No entanto, e a partir de 2008 foi introduzido um novo esquema: as explorações eram testadas de acordo com a zona em que se localizavam e o risco que representavam.

Outros países escandinavos como a Noruega, a Suécia, Dinamarca e a Finlândia, partiam de prevalências bastante diferentes, tendo a Finlândia uma prevalência inferior a 1 % em 1993 e a Suécia e Dinamarca com cerca de 40%. Todos estes países partilhavam um programa de controlo semelhante ao descrito anteriormente. Este programa tem como base a classificação inicial das explorações em não-infetadas ou infetadas, a vigilância e certificação das primeiras e a eliminação das últimas.

Estes países demoraram cerca de 10 a 11 anos a atingir as fases finais dos programas de erradicação, o que foi considerado um sucesso (Sandvik 2004).

O modelo Suíço

Na Suíça e em contraste com o anterior modelo, foi iniciado um programa de erradicação com carácter obrigatório em que era feita a identificação e eliminação dos animais PI perante determinação de AG. Este programa é considerado uma alternativa para países que partem de uma elevada prevalência, de comércio e transporte de gado para outras e de outras regiões e com campanhas de vacinação a decorrer. Assim, em 2008, foi iniciado o programa que consistiu numa abordagem faseada distribuída em 3 passos sem vacinação. Perante isto, a prevalência de PI desceu de 1,3 para 0,02% em 5 anos (Wernike *et al.* 2017a).

Na Alemanha, foi dado início a um programa de controlo voluntário em 1998 e com responsabilidade individual dos estados federados. No entanto, como em 10 anos não houve progressos mensuráveis, em 2011 foi implementou-se um programa obrigatório. Como objectivo, tinham a rápida e eficiente detecção de animais PI e a classificação de explorações que mantinham apenas animais livres de vírus. A vacinação era permitida e o recomendado para a

uma resposta imune de longa acção era a utilização de uma vacina inativada seguida de uma viva modificada.

Na sua legislação, definiu-se um animal PI como um animal com 2 resultados positivos a Ag ou genoma de BVDV com um intervalo de no máximo 60 dias entre estes (a Junho de 2016 foi diminuído para 40 dias). Um animal com ascendência PI era também ele considerado como PI. A maioria dos testes diagnósticos era feita no momento em que a brincagem aos animais era realizada (primeiros 7 dias de vida). Também, por vezes, era feita a utilização de sangue para confirmação, no entanto, tinha uso limitado devido aos AC maternos (Wernike *et al.* 2017a).

No entanto, nos primeiros anos do programa de erradicação da BVD neste país foram identificados alguns factores de risco que influenciavam negativamente o progresso do programa. Factores como manter animais PI nas explorações por um período maior do que o estipulado por lei, medidas insuficientes de biossegurança, deficiências no sistema de manejo dos animais, o contacto com animais de estatuto desconhecido em exposições, mercados de gado e em pastagens comuns, importação de animais de carne sem estatuto conhecido, subestimar as “vacas de Tróia” (fêmeas gestantes com um feto PI mas que elas mesmas não são PI) e os testes diagnósticos com uma sensibilidade inferior a 100% (Schirrmeyer 2014).

Mas, entre o ano de 2011 e de 2016, a proporção de animais PI diminuiu de 0.5% para 0.03% o que indica o sucesso da implementação deste programa.

A Irlanda escolheu uma estratégia semelhante e em 2012 implementou um programa de carácter voluntário que após 1 ano se tornou obrigatório e se focou no teste “*ear notch*” a todos os recém-nascidos. Baseado no modelo Suíço, fez utilização de detecção de antígeno para identificar animais positivos a BVDV. Três anos após ter começado a fase obrigatória, um elevado número de explorações já tinha o estatuto de negativa a BVD que é definida como a ausência de animais PI nos 12 meses anteriores com utilização de tecido da orelha (Thulke *et al.* 2018). Em Julho de 2017, 86% das explorações detinham estatuto “negativo a BVD” (Tratalos *et al.* 2018).

O Programa de Controlo da Diarreia Viral Bovina da Região Autónoma dos Açores

A Região Autónoma dos Açores (RAA) inclui 9 ilhas e o efectivo bovino presente nesta, à data de 31 de Dezembro de 2018, compreendia 275.015 bovinos em 7631 explorações. A ilha Terceira possuía aproximadamente 64.763 animais (dados do SNIRA 2018).

O programa de controlo da BVD na RAA foi iniciado com a portaria 56 de 21 de Junho de 2016 (SRAA 2016). Este contemplava duas fases, em que primeiramente seria feita a avaliação da prevalência da BVD ao recorrer à detecção de PI com a eliminação destes, e, numa segunda fase

seria feita, perante colaboração de todos os intervenientes, a implementação e consequente monitorização de medidas de biossegurança.

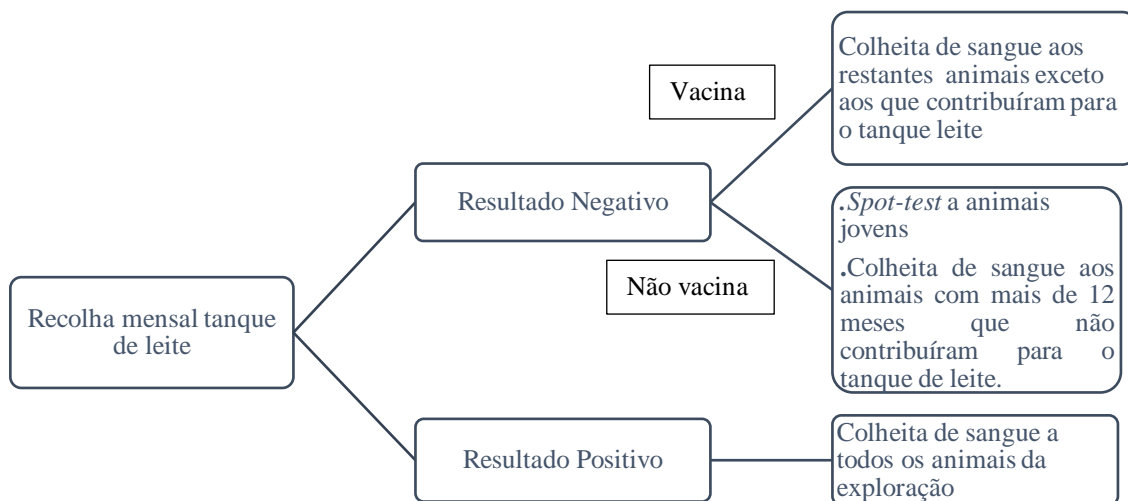


Figura 2 - Esquema diagnóstico nas explorações leiteiras do Programa de Controlo da BVD na RAA.

Assim, se a exploração em causa fosse uma exploração de leite era feita pesquisa do vírus no tanque do leite. Perante um resultado positivo, era colhido sangue a todos os animais da exploração para pesquisa de PI. Se estivéssemos perante um resultado negativo e a exploração em causa vacinasse, era feita colheita de sangue a todos os animais que não contribuíram para o tanque do leite. Caso fosse feita a aplicação de uma vacina viva, a colheita teria de ser feita 25 dias após a realização da vacinação. Se a vacina não era aplicada, era realizado o *spot-test* a jovens e era colhido sangue a animais com mais de 12 meses que não contribuíram para o tanque do leite.

Por outro lado, se se tratasse de uma exploração de carne era feita a colheita de sangue a todos os animais para pesquisa de PI.

- 1) Não vacinadas: Spot-test para pesquisa de AC e colheita de sangue a todos os animais com mais de 12 meses que eram feitas simultaneamente com o Plano da Brucelose Bovina;
Se o *spot-test* fosse positivo: era feita colheita de sangue aos restantes animais;
(São consideradas explorações que não vacinam as que há mais de 12 meses não fazem uso de uma vacina viva)

- 2) Vacinadas: colheita de sangue a todos os animais da exploração (pesquisa de PI) mas esperar 25 dias no caso de vacinar com vacina viva.

Assim, esta primeira fase compreendia um inquérito ao produtor (disponibilizado no PISA.NET), avaliação das medidas de biossegurança e saber se o BVDV estava presente nas explorações.

A segunda fase do programa seria implementada logo que a primeira estivesse concluída.

Se um animal fosse positivo ao PCR ou ELISA de Ag e se fosse testado em tecido de orelha, tinha de ser colocado em sequestro sanitário e tinha de ser abatido no prazo máximo de 15 dias. Mas, se fosse testado sorologicamente tinha de ser colocado em sequestro sanitário e ser retestado 30 dias após o primeiro diagnóstico (confirmação de animal PI). Se positivo, mais uma vez, no prazo máximo de 15 dias úteis teria de ser abatido. Após este resultado, não era possível a emissão de guias de circulação exceto se fosse para abate direto.

O plano também mencionava a necessidade de ser testado o sémen de machos reprodutores e a obrigatoriedade de testar a ascendência de animais PI e a descendência de fêmeas PI (excepto se abatidos ou fora da RAA).

Assim, uma exploração tornava-se “Livre de BVD “ ao ser finalizado o abate de animais PI, mas, eram obrigatórias 3 medidas:

1. Identificação na exploração com brincos de DNA;
2. Realização de Teste de Pré-Movimentação aos animais que não tenham um resultado ao Ag negativo, um *spot-test* negativo ou um Coabitante do *spot-test* negativo;
3. “Vacinação facultativa, mas fortemente recomendada, de todos os animais da exploração (a cargo do produtor) com proteção fetal e proteção clínica, preferencialmente para os biótipos I e II.” (DGAV 2016).

As explorações eram classificadas de acordo com a presença de BVD:

1. Livre (BVDL) – quando todos os resultados eram negativos;
2. Infetada (BVDI) – com resultados Positivos PI (serologia, sémen ou orelha)
3. Suspensa (BVDS) – com resultados Duvidosos (no caso dos TI);
4. Desconhecida (BVDD) – ainda não intervencionada.

Apoios Financeiros

A Portaria 56/2016 obrigava os produtores ao abate de animais PI, sendo compensado financeiramente apenas o abate de fêmeas e com mais e 12 meses de idade. Entretanto, este diploma foi alterado e republicado pela Portaria 29 de 27 de Março de 2018, que comparticipa

financeiramente o abate de todos os animais PI, desde que cumpram com o estipulado na mesma. Estes apoios variavam entre 50€ e 700€, dependendo do animal em questão. É também referida na portaria 56 de 21 de Junho de 2016, que os brincos de DNA seriam comparticipados pela Direcção Regional de Agricultura.

Estudo

O presente estudo foi realizado com o objectivo de avaliar o conhecimento dos produtores de gado bovino da ilha Terceira relativamente ao plano de controlo da BVD a decorrer na RAA e a a percentagem de vacinação contra a BVD.

Materiais e Métodos

O inquérito aos produtores de gado bovino da ilha Terceira foi realizado em suporte de papel, sendo constituído por uma página, dividida em diferentes secções, compreendendo a caracterização da exploração, do produtor e a avaliação do conhecimento e percepção do Plano de Controlo de BVD a decorrer na Região Autónoma dos Açores.

O questionário, preenchido por mim, foi realizado durante as visitas às explorações de toda a ilha e no posto de venda de fármacos da UNICOL durante o período de 4 de Fevereiro a 9 de Março de 2019.

Resultados

Caracterização da amostra

O número total de inquéritos recolhidos foi 53 em que 87% (n=46) das explorações eram de bovinos de leite, 9% (n=5) de carne e 4% (n=2) eram um sistema misto. A média de animais por exploração foi de 65. Relativamente ao tipo de local onde o gado estava, 96% (n=51) estava no campo todo o ano e 4% (n=2) tinha os seus animais estabulados.



Figura 3 - Mapa da distribuição da localização das explorações inquiridas assinaladas com estrela preta.

Na Figura 3 estão representadas as explorações que foram inquiridas de acordo com a sua localização na ilha Terceira.

Informações relativas ao efectivo

Relativamente à vacinação, 75% dos inquiridos afirmavam não vacinar no presente e quando questionados os produtores que não vacinavam, 62% apontava causas monetárias como a principal razão de não o fazer. Surpreendentemente, 23% dizia não vacinar por decisão própria e 15% afirmava desconhecer a existência de vacinação. No passado, 15% dos produtores inquiridos afirmava já ter vacinado mas no presente não o fazia, alegando não notarem diferenças na sua manada.

Dos produtores que vacinavam (25%), apenas 25% (n=3) sabiam o nome comercial da vacina utilizada na sua exploração.

Informações relativas ao produtor

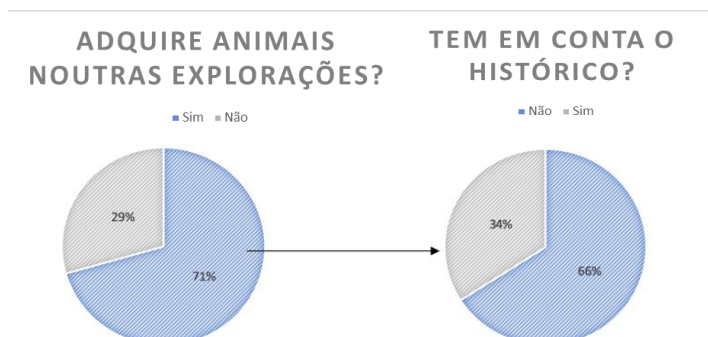


Gráfico 4 - Comparação de produtores que adquiriam animais noutras explorações e destes quantos tinham em conta o histórico de doenças.

Quando inquiridos sobre a compra de animais noutras explorações, 71% dos produtores afirmavam que compravam noutras explorações e destes 66% não tinham em conta o histórico de doenças da exploração de origem (Gráfico 5). Relativamente à movimentação dos animais, 15% dos inquiridos afirmavam levar os seus animais à Feira de animais existente na ilha.

Informações relativas ao Plano de Controlo da BVD na RAA

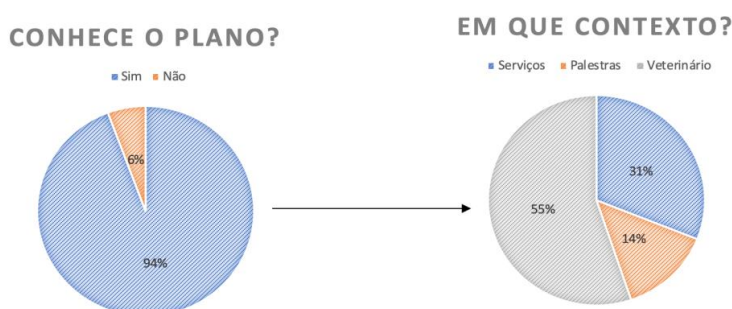


Gráfico 5 - Comparação de produtores que conhecia o Plano de Controlo de BVD na RAA e destes qual a fonte que os tinha informado.

Relativamente ao plano de controlo, 94% afirmava conhecê-lo e 55% destes apontava o Médico Veterinário como a fonte de informação que mais transmitia o plano. Os Serviços Regionais

apresentavam-se em segundo lugar com 31% de respostas a favor e as palestras obtinham assim 14% de respostas (Gráfico 5).

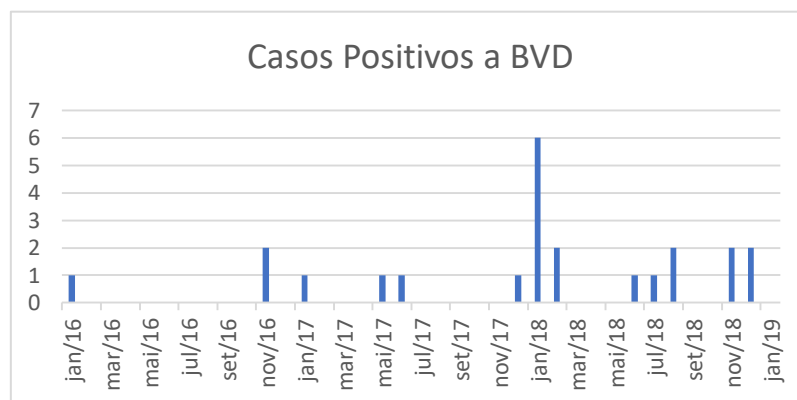


Gráfico 6 - Datas em que os produtores referiram terem casos positivos a BVD

Quanto aos casos positivos de BVD reportados pelos donos das explorações, Janeiro de 2018 apresentava-se como o mês registado com mais casos (Gráfico 6). Desde a implementação do plano existiam apoios financeiros concedidos aos produtores que tinham animais positivos ao BVDV. Assim, 58% (n=31) dos inquiridos estava ciente da existência destes. Deste universo, 75% tinha sido informado através dos Serviços Regionais. As palestras e os locais representavam 14% e 13%, respectivamente.



Gráfico 7 - Data de implementação do Programa de Controlo da BVD nas explorações.

Quanto à data de implementação do plano de controlo das explorações inquiridas, é de notar que 55% (n=29) das explorações via o plano implementado nos primeiros 12 meses após o início deste (Gráfico 7). No entanto, 8% dos inquiridos ainda não tinham o programa a decorrer na sua exploração até Março de 2019.

Discussão

A percepção dos produtores em relação à ameaça que uma doença representa tem como principal factor o impacto económico desta (Heffernan *et al.* 2016). Este molda o sucesso de um plano de controlo ou erradicação. Como verificado, aquando da realização do questionário no campo e no contacto que tive com os produtores da ilha Terceira, estes desconheciam o impacto económico que esta pode ter nos seus animais.

A “Declaração de Compromisso” com carácter obrigatório, tinha de ser preenchida e assinada pelo produtor, onde ficava declarado que este conhece o plano e que assim cumpriria com o estipulado no mesmo. No entanto, verifiquei que apesar da minha questão no questionário sobre o conhecimento do plano ter 94% de respostas positivas, a maior parte não sabia indicar um sinal clínico. Ou seja, na altura ainda existia um grande desconhecimento do sector relativamente aa BVD. Se todos os produtores tivessem a mesma perspectiva face à doença, partilhariam objectivos e a motivação para participar ativamente no programa (Heffernan *et al.* 2016).

Não consideravam a vacinação como uma importante medida para o controlo da doença. Quando questionados sobre o motivo da não vacinação o mais apontado foram questões monetárias, sendo a mais referida a ausência de subsídios. Quando um produtor gere por si mesmo as acções a aplicar no controlo de uma doença transmissível, as suas decisões influenciam todos os envolvidos. Neste caso, o benefício colectivo da vacinação individual é maior do que o benefício individual para quem vacina a sua exploração. Ao serem dados apoios financeiros à vacinação levam a que a prevalência da doença diminua, o que por sua vez leva à diminuição de perdas relacionadas com esta. Não pode ser, contudo, esquecido que existem custos colectivos da vacinação (Rat-Aspert & Fourichon 2010). A vacinação, especialmente a capaz de induzir protecção fetal, é uma medida de controlo com bastante importância.

Relativamente ao apoio ao abate de animais positivos a BVD previsto na portaria 56 de 2016, 42% dos inquiridos estava ciente da sua existência, tendo obtido essa informação através dos serviços oficiais. Era, assim, transmitida através de uma carta registada onde para além desta informação continha também os dias que o produtor tinha para abater o seu animal. Um aspecto negativo aquando da realização desta parte do questionário foi um caso em que houve um atraso na chegada desta e, entretanto, o produtor vendeu o seu animal PI a uma exploração contígua.

Nas explorações em que o plano estava implementado, 55% dos produtores apontou o Médico Veterinário como principal elemento difusor de informação. Os meios envolvidos têm de se certificar que todas as partes envolvidas num programa de controlo estão devidamente

informadas. Isto deve incluir informações básicas sobre sinais clínicos e a epidemiologia da BVD com ênfase em como evitar possíveis fontes de infecção dada aos produtores.

Como maneira de avaliar o conhecimento dos produtores quanto ao plano, perguntava no questionário o prazo de entrega de amostras de tecido de orelha, aquando da colocação de brincos nos recém-nascidos, que é responsabilidade destes. Obtive a maioria de respostas positivas nas explorações em que o plano já estava implementado. Assim, existe uma consciência da importância da entrega das amostras no prazo estabelecido (5 dias) pela portaria 29 de 27 de Março de 2018 (SRAF 2018).

Os Médicos Veterinários que não estejam directamente envolvidos na implementação do programa devem procurar estar a par do estatuto das explorações que visitam para assim garantir medidas de biossegurança entre estas (Sandvik 2004). Com o resultado do questionário, o papel do Médico Veterinário que presta assistência às explorações da ilha Terceira, mas que não está directamente envolvido, é relevante para a contínua informação e formação dos produtores relativamente à BVD.

As cooperativas e organizações de produtores têm também um papel chave na difusão de informação e de fazer entender o que os produtores e os seus animais podem ganhar com a cooperação com o plano (Heffernan *et al.* 2016). Um aspeto positivo a considerar na dinâmica da ilha era a importância que estas entidades tinham para a formação dos produtores. Durante o meu período de estágio pude participar em variadas palestras informativas dadas aos produtores por parte destas entidades.

Um dos objectivos seria classificar todas as explorações na RAA quanto ao seu estatuto relativamente à BVD. Até à data, a ilha do Corvo e das Flores já tinham todos os seus animais com estatuto conhecido.

A 21 de Fevereiro de 2019, 54.4% das explorações da RAA estavam classificadas para BVD, com 251.315 análises de sangue e brinco de DNA feitas com uma prevalência de PI de 0,66% (Comunicação pessoal Dra. Paula Vieira a 21 de Fevereiro de 2019 na ilha Terceira).

Como mencionado anteriormente, surgiu um animal suspeito de ser positivo a BVDV e, assim, foi retirada uma amostra de tecido de orelha para posterior diagnóstico. Este não foi realizado pois o animal tinha sido eutanasiado. A utilização da brincagem dos animais como método de obter uma amostra é um método fácil, eficaz e prontamente percebido pela comunidade. A testagem de todos os animais recém-nascidos contribui para a obtenção de informação detalhada sobre a situação epidemiológica da região, sendo possível compreender a população hospedeira em apenas 3 ou 4 anos (Thulke *et al.* 2018).

A RAA caracteriza-se por manter os seus animais no pasto, deste modo, as manadas de diferentes explorações cruzavam-se na mudança de pastos. Em termos de biossegurança este aspeto não pode ser modificado, mas, sendo a Terceira uma ilha, se os animais que entrarem nesta forem testados negativos a antígeno ou RNA viral, o sucesso do programa seria atingindo mais rapidamente. Assim, manadas que tenham contacto com outras através da pastagem e na troca de pastos têm um fator de risco que não pode ser controlado, então, a vacinação torna-se necessária (Smith *et al.* 2014).

Assim, para o futuro sucesso do Plano de Controlo da BVD na RAA, na minha opinião, existiam alguns aspetos a melhorar:

1. Educação e informação de todos os intervenientes;
2. A percepção dos produtores relativamente ao impacto da BVD na sua manada;
3. Medidas de biossegurança mais estritas no que concerne gado que entra na ilha, valorizando animais que sejam negativos a ELISA de antígeno ou RNA viral por PCR;
4. Clarificar umas das medidas obrigatórias para a manutenção do estatuto “Livre de BVD” relativamente à vacinação recomendada (inserida nas medidas obrigatórias);
5. Realizar testes diagnósticos a todos os animais, mesmo os que morrem à nascença, para uma melhor caracterização epidemiológica da exploração e da região;
6. Criar medidas para a manutenção do estatuto “Livre de BVD”, na última fase do plano de controlo, mais completas, incluindo a realização de questionários epidemiológicos e utilização de técnicas moleculares para assim detetar semelhanças ou diferenças na estirpe infetante no caso de um surto ocorrer (após obtenção do estatuto);
7. Conseguir que os fundos monetários que estão destinados a serem utilizados para o Programa continuem a ser uma realidade no futuro.

Conclusão

Apesar das limitações do estudo e de uma amostra reduzida, é possível concluir que o fator humano para o sucesso do programa de controlo na RAA é chave. O questionário poderia ter sido mais completo e assim avaliar mais eficazmente as práticas de biossegurança e, assim tornar-se numa melhor ferramenta para avaliar o risco de introdução e disseminação da BVDV nas explorações da ilha Terceira.

Nas décadas recentes, países como a Noruega, Suécia, Finlândia e a Dinamarca demonstraram que quando um plano tem carácter obrigatório o sucesso é possível. Outros países como a Alemanha, Áustria e a Suécia estão nos estadios finais dos seus programas de controlo.

Assim, a RAA tem ainda de lidar com certas fragilidades do sector em termos de formação humana, centrando-se por isso na melhoria da percepção dos seus produtores relativamente à BVD.

Bibliografia

Baker JC (1987) “Bovine viral diarrhoea virus: a review.” **Journal of the American Veterinary Medical Association** 190, 1449–58.

Barros SC, Ramos F, Paupério S, Thompson G, Fevereiro M (2006) “Phylogenetic analysis of Portuguese bovine viral diarrhoea virus.” **Virus Research** 118, 192–195.

Benevides SEAA, Flor LMG, Martins HCD, Sellal E, Daly S, Colin S (2015) “Phylogenetic analysis of Bovine Viral Diarrhoea Virus (BVDV) isolates from Azores Análise filogenética de isolados do Vírus da Diarreia Viral Bovina (BVDV) dos Açores.” **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias** 110, 181–187.

Boersema S-J, da Silva JC, Mee J, Noordhuizen J (2013) “Farm health and productivity management of dairy young stock.” **Farm health and productivity management of dairy young stock.**

Brownlie J (1990) “The pathogenesis of bovine viral diarrhoea virus infections.” **Rev. Sci. Tech.** 9, 43–59.

DGAV DG de A e V (2016) “Programa de Controlo da Diarreia Viral Bovina da Região Autónoma dos Açores.”

Ezanno P, Fourichon C, Seegers H (2008) “Influence of herd structure and type of virus introduction on the spread of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) within a dairy herd.” **Veterinary Research** 39, 1–21.

Flaherty JO, Doherty M (2011) “BVD eradication in Ireland.” , 1–47.

Goyal SM, Ridpath JF (2008) “Bovine Viral Diarrhoea Virus: Diagnosis, Management, and Control.” **Bovine Viral Diarrhoea Virus: Diagnosis, Management, and Control**, 1–261.

Greiser-Wilke I, Grummer B, Moennig V (2003) “Bovine viral diarrhoea eradication and control programmes in Europe.” **Biologicals** 31, 113–118.

Häsler B, Howe KS, Presi P, Stärk KDC (2012) “An economic model to evaluate the mitigation programme for bovine viral diarrhoea in Switzerland.” **Preventive Veterinary Medicine** 106,

162–173.

Heffernan C, Azbel-jackson L, Brownlie J, Gunn G (2016) “Farmer Attitudes and Livestock Disease : Exploring Citizenship Behaviour and Peer Monitoring across Two BVD Control Schemes in the UK.” **Plos One**, 1–14.

Houe H (1999) “Epidemiological features and economical importance of bovine virus diarrhoea virus (BVDV) infections.” **Veterinary Microbiology** 64.

Houe H (2003) “Economic impact of BVDV infection in dairies.” **Biologicals** 31, 137–143.

Hult L, Lindberg A (2005) “Experiences from BVDV control in Sweden.” **Preventive Veterinary Medicine** 72, 143–148.

Iotti B, Valdano E, Savini L, Candeloro L, Giovannini A, Rosati S, Colizza V, Giacobini M (2019) “Farm productive contexts and the dynamics of bovine viral diarrhea (BVD) transmission.” **Preventive Veterinary Medicine** 165, 23–33.

Lanyon SR, Hill FI, Reichel MP, Brownlie J (2014) “Bovine viral diarrhoea: Pathogenesis and diagnosis.” **Veterinary Journal** 199, 201–209.

Maclachlan NJ, Dubovi EJ (2016) “Bovine viral diarrhea virus.” **Fenner’s Veterinary Virology**, 602. Elsevier.

Moennig V, Eicken K, Flebbe U, Frey H-R, Grummer B, Haas L, Greiser-Wilke I, Liess B (2005) “Implementation of two-step vaccination in the control of bovine viral diarrhoea (BVD).” **Preventive Veterinary Medicine** 72, 109–114.

Niza-Ribeiro J, Pereira A, Souza J, Madeira H, Barbosa A, Afonso C (2005) “Estimated BVDV-prevalence, -contact and -vaccine use in dairy herds in Northern Portugal.” **Preventive Veterinary Medicine** 72, 81–85.

Peek SF, Divers TJ (2018) “Bovine Viral Diarrhea Virus.” **Rebhun’s Diseases of Dairy Cattle**, 704. Elsevier.

Peterhans E, Jungi TW, Schweizer M (2003) “BVDV and innate immunity.” **Biologicals** 31,

107–112.

Pinior B, Firth CL, Richter V, Lebl K, Trauffler M, Dzieciol M, Hutter SE, Burgstaller J, Obritzhauser W, Winter P, Käsbohrer A (2017) “A systematic review of financial and economic assessments of bovine viral diarrhea virus (BVDV) prevention and mitigation activities worldwide.” **Preventive Veterinary Medicine** 137, 77–92.

Presi P, Heim D (2010) “BVD eradication in Switzerland—A new approach.” **Veterinary Microbiology** 142, 137–142.

Rat-Aspert O, Fourichon C (2010) “Modelling collective effectiveness of voluntary vaccination with and without incentives.” **Preventive Veterinary Medicine** 93, 265–275.

Ridpath JF (2013) “Immunology of BVDV vaccines.” **Biologicals** 41, 14–19.

Sandvik T (2004) “Progress of control and prevention programs for bovine viral diarrhea virus in Europe.” **Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice** 20, 151–169.

Schirrmeier H (2014) “Three years of mandatory BVD control in Germany- Lessons to be learned.” 1–5.

Smith, Bradford P (2014) “Diseases of the Alimentary Tract.” **Large Animal Internal Medicine**, 2024. Elsevier.

Smith RL, Sanderson MW, Jones R, N’Guessan Y, Renter D, Larson R, White BJ (2014) “Economic risk analysis model for bovine viral diarrhea virus biosecurity in cow-calf herds.” **Preventive Veterinary Medicine** 113, 492–503.

SRAA (2016) **Secretaria Regional da Agricultura e Ambiente Portaria n . ° 56 / 2016 de 21 de Junho de 2016.**

SRAF (2018) **Secretaria Regional da Agricultura e Florestas Portaria n . ° 29 / 2018 de 27 de março de 2018.**

Thulke H, Lange M, Tratalos JA, Clegg TA, Mcgrath G, Grady LO, Sullivan PO, Doherty ML, Graham DA, More SJ (2018) “Eradicating BVD , reviewing Irish programme data and model

predictions to support prospective decision making.” **Preventive Veterinary Medicine** 150, 151–161.

Tratalos JA, Thulke H-H, Graham DA, Guelbenzu Gonzalo M, More SJ (2018) “Decision support beyond total savings—Eligibility and potential savings for individual participants from changes in the national surveillance strategy for bovine viral diarrhoea (BVD) in Ireland.” **Preventive Veterinary Medicine** 155, 38–44.

Wernike K, Gethmann J, Schirrmeier H, Schröder R, Conraths F, Beer M (2017a) “Six Years (2011–2016) of Mandatory Nationwide Bovine Viral Diarrhea Control in Germany—A Success Story.” **Pathogens** 6, 50.

Wernike K, Schirrmeier H, Strebelow HG, Beer M (2017b) “Eradication of bovine viral diarrhea virus in Germany—Diversity of subtypes and detection of live-vaccine viruses.” **Veterinary Microbiology** 208, 25–29.

Anexos

Questionário para tese de mestrado

O presente questionário tem como objectivo aferir o grau de conhecimento dos produtores de gado bovino na Ilha Terceira no que concerne a Diarreia Viral Bovina – BVD - e o plano de controlo a decorrer na Região Autónoma dos Açores.

A sua duração é de aproximadamente 3 minutos. Muito obrigada pelo seu contributo!

Informações relativas à exploração:

1. Localização: _____
2. Tipo: Carne__ Leite__ Misto__ Gado Bravo__
3. Número de animais: _____ 2.1 Número de animais em ordenha: _____
4. Tipo: Estabulação:_____ Campo:_____
5. Costuma adquirir animais provenientes de outras explorações? Sim__ Não__
6. Se sim, tem em conta o histórico de doenças da exploração de origem? Sim__ Não__
7. Costuma levar os seus animais à Feira?_____
8. Já teve algum caso confirmado de BVD? Sim__ Não__ 3.1 Se sim, quando?
__/__/____
9. Como lhe foi comunicado o resultado?

Informações relativas ao Plano de Controlo e Erradicação da BVD:

1. Conhece o Plano de controlo a decorrer na RAA? Sim ____ Não____
2. Se sim, em que contexto?
 - i. Médico Veterinário
 - ii. Palestra
 - iii. Serviços Oficiais
 - iv. Outro
3. Há quanto tempo decorre o plano na sua exploração?_____
4. Recolhe amostras recorrendo aos brincos de vitelos? Sim ____ Não____
5. Sabe quantos dias tem para entrega de amostras? Sim__ (__) dias Não__
6. Onde entrega as amostras?_____

Informações relativas ao efectivo:

1. Vacina os seus animais para BVD no presente? Sim__ Não__
2. Qual o nome da vacina?_____
3. Se não, porque não vacina? _____
4. Já vacinou no passado? Sim__ Não__

Informações relativas a apoios:

1. Sabe de algum tipo de apoio por abate de um bovino com BVD? Sim__ Não__
2. Se sim, como foi informado? _____